低锌饲粮添加植酸酶对1~4周龄鹅生长性能、胫骨发育、免疫性能及抗氧化能力的影响[1]

郑惠文　王宝维*　葛文华　张名爱　岳　斌　张泽南　张洋洋　任　民

（青岛农业大学优质水禽研究所，国家水禽产业技术体系营养与饲料功能研究室，青岛 266109)

摘　要：本试验旨在研究低锌饲粮添加植酸酶对1～4周龄鹅生长性能、胫骨发育、免疫性能及抗氧化能力影响，探索饲粮添加植酸酶能否提高锌生物学效价和有效降低锌的添加水平。选用1日龄五龙鹅360只，随机分为6组，每组6个重复，每个重复10只鹅（公母各占1/2）。Ⅰ组为正对照组，饲喂基础饲粮，添加80 mg/kg硫酸锌，未添加植酸酶；Ⅱ组为负对照组，饲喂基础饲粮，添加1 200 U/kg植酸酶，未添加锌；Ⅲ~Ⅵ组在负对照组的基础上分别添加16、32、48、64 mg/kg硫酸锌。试验期28 d。结果表明：1）通过二次曲线拟合分析，在饲粮添加1 200 U/kg植酸酶的条件下，饲粮锌添加水平为34.00~44.70 mg/kg时可获得最佳平均日增重与料重比。2）IV、Ⅴ组的骨密度（BMD）显著高于Ⅱ组（$P<0.05$）；IV、Ⅴ组的骨矿含量（BMC）和血清碱性磷酸酶（AKP）活性显著或极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（$P<0.05$或$P<0.01$）。通过二次曲线拟合分析，饲粮锌添加水平为51.38 mg/kg时，血清AKP活性最大。3）Ⅳ组的血清和肝脏总抗氧化能力（T-AOC）显著高于II组（$P<0.05$），与I组差异不显著（$P>0.05$），通过二次曲线拟合分析，饲粮锌添加水平分别为50.24和47.49 mg/kg时，血清和肝脏的T-AOC最大。4）III~VI组的胸腺指数和法氏囊指数均显著或极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（$P<0.05$或$P<0.01$）；IV~VI组免疫前后的血清新城疫抗体水平均显著或极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（$P<0.05$或$P<0.01$）。由此可见，饲粮中添加植酸酶可以提高1~4周龄五龙鹅的生长性能，促进胫骨发育，增强机体抗氧化能力和免疫性能，有效提高锌利用率，降低饲粮中锌添加水平，增加锌的生物学效价。建议在饲粮添加1 200 U/kg植酸酶的条件下，锌适宜添加水平为44.70~51.38 mg/kg。

关键词：锌；植酸酶；鹅；生长发育；胫骨发育；抗氧化能力；免疫

中图分类号：S835　　　文献标识码：　　　文章编号：

锌是动物所必需的微量元素，它能促进骨骼发育，提高免疫性能[1]，并参与碱性磷酸酶（AKP）等多种酶的合成，与动物机体的抗氧化能力密切相关[2]，且能促进动物的骨骼发育

收稿日期：2016-04-25

基金项目：国家水禽产业技术体系专项基金(CARS-43-11)；山东省良种工程（12-1-3-17-nsh）

作者简介：郑惠文(1991-)，女，山东潍坊人，硕士研究生，研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 1258992674@qq.com

*通信作者：王宝维，教授，硕士生导师，E-mail: wangbw@qau.edu.cn

[3]。植酸酶是一类能将植酸和植酸盐中的磷酸基团逐一水解，最终释放出肌醇和无机磷的磷酸单酯酶，它能促进微量元素的生物利用率，且能促进单胃动物的生长性能[4]。为此，深入研究植酸酶对锌营养利用率的影响，探讨锌和植酸酶对机体生长发育、免疫器官指数和抗氧化能力的有益作用，对科学地降低鹅饲粮中锌的添加水平具有重要意义。锌是一种受饲粮植酸含量影响最大的微量元素[5]。有研究证实，锌与植酸酶在小肠上段能够结合成极难溶解的植酸盐，不能被动物体消化吸收，从而阻碍了锌的生物学效价[6]。根据我国农业部 1224 公告，硫酸锌（$ZnSO_4$）在鹅饲粮中的建议添加水平为 60 mg/kg。而陈苗璐等[7]研究表明，五龙鹅达到最佳生长性能的适宜锌添加水平为 106.45 mg/kg，超出了我国的推荐量。Brnić等[8]研究表明，添加植酸酶对氧化锌（ZnO）和硫酸锌的利用率提高了 80%左右；Revy 等[9]在对仔猪添加锌和植酸酶的研究表明，添加植酸酶组的锌生物学效价优于只添加锌组；朱连勤等[10]研究了不同植酸酶对蛋鸡组织微量元素沉积的影响，发现添加 400 U/kg 植酸酶能有效提高锌的组织沉积。本试验旨在探索植酸酶与锌协同作用对 1~4 周龄鹅生长性能、胫骨发育、免疫性能及抗氧化能力的影响，确定添加植酸酶对锌的利用率，为鹅饲粮中植酸酶的合理利用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验动物与试验设计

选择 1 日龄体况相近的五龙鹅 360 只，随机分为 6 组，每组 6 个重复，每个重复 10 只鹅，公母各占 1/2。Ⅰ组为正对照组，饲喂基础饲粮，添加 80 mg/kg 硫酸锌，未添加植酸酶；Ⅱ组为负对照组，饲喂基础饲粮，添加 1 200 U/kg 植酸酶，未添加锌；Ⅲ~Ⅵ组在负对照组的基础上分别添加 16、32、48、64 mg/kg 硫酸锌。本试验锌源购自浙江新维普添加剂有限公司，植酸酶购自江苏远方中汇生物科技有限公司。

1.2　试验饲粮

试验用饲粮以玉米和豆粕为主要原料，参照 NRC(1994)家禽营养需要量中推荐的鹅饲粮营养水平设计配方。试验期 28 d。基础饲粮组成及营养水平见表 1。基础饲粮中锌含量采用等离子体发射光谱仪测得。

表 1　基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)　　%

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels[2)]	含量 Content
玉米 Corn	57.29	代谢能 ME/(MJ/kg)	14.35
豆粕 Soybean meal	19.00	粗纤维 CF	5.38

菜籽粕 Rapeseed dregs	4.00	粗蛋白质 CP	18.15
花生粕 Peanut meal	3.00	赖氨酸 Lys	1.03
		蛋氨酸+半胱氨酸	
干酒糟及其可溶物 DDGS	5.00	Met+Cys	0.76
秸秆 Straw	7.50	钙 Ca	1.07
赖氨酸 Lys	0.30	磷 P	0.54
蛋氨酸 Met	0.17	有效磷 AP	0.35
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.00	食盐 NaCl	0.30
碳酸钙 $CaCO_3$	2.00	锌 Zn/(mg/kg)	27.83
食盐 NaCl	0.24		
多维 Multi-vitamin [1)]	0.30		
微量元素 Trace elements[1)]	0.20		
合计 Total	100.00		

[1)] 多维和微量元素为每千克饲粮提供 The multi-vitamin and trace elements provided the following per kg of the diet:VD_3 200 IU，VA 1 500 mg，VE 12.5 mg，VK 31.5 mg，VB_1 2.2 mg，VB_2 5.0 mg，烟酸 nicotinic acid 65 mg，泛酸 pantothenate 15 mg，VB_6 2 mg，生物素 biotin 0.2mg，叶酸 folic acid 0.5 mg，胆碱 choline 1 000 mg，Fe 85 mg，Mn 80 mg，Cu 20 mg，I 0.42 mg，Se 0.3 mg，Co 2.5 mg。

[2)] 粗纤维、锌为实测值，其余营养水平为计算值。CF and Zn were tested values, while the others were calculated values.

1.3 饲养管理

饲养试验开始前对鹅舍及器具进行冲洗和高锰酸钾喷雾消毒，然后用福尔马林和高锰酸钾熏蒸，密闭门窗 24 h。1 周后开始试验。试验采用网上散养方式，全期自由采食，自由饮水，试验期内定期消毒，严格控制温湿度和光照，1~3 日龄皮下注射小鹅瘟、鹅副黏病毒二联灭活疫苗；10 日龄皮下注射新城疫 H5N1 疫苗；20 日胸部肌肉注射新城疫油苗。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生长性能

在 1 日龄时对试验鹅苗进行称重，第 4 周龄末，以重复为单位分别进行空腹称重，计算 1~4 周龄的平均日增重（ADG）；统计每日耗料量，计算平均日采食量（ADFI）。每天记录各组死淘情况，计算料重比（F/G）和死淘率[11]。

1.4.2 胫骨发育

在第 4 周龄末屠宰后，取鹅右侧胫骨（每重复 1 只，共 36 只），采用数字闪烁式锥形扫描骨密度仪（osteocoer 3）测定骨密度（bone mineral density，BMD），计算骨矿含量（bone mineral content，BMC），然后 105 ℃烘干后称重胫骨重量，再依据 GB/T 6438-1992、原子分光光度分和钼黄比色法分别测定胫骨中骨灰分及钙（Ca）、磷（P）含量。AKP 活性由相

应试剂盒测得，试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.4.3 抗氧化指标

第4周龄末屠宰时，采集鹅的血清和肝脏（每重复2只，共72只）。总抗氧化能力（T-AOC）采用比色法测定，谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性采用比色法测定，铜锌超氧化物歧化酶（Cu-Zn SOD）活性采用黄嘌呤氧化酶法测定，丙二醛（MDA）含量采用硫代巴比妥酸反应（TBA）测定，上述指标均用试剂盒测定，试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.4.4 免疫性能

免疫器官指数的测定：在第4周龄末进行屠宰试验时，摘取鹅的免疫器官（胸腺、脾脏、法氏囊），并剔除附着的组织，用滤纸吸干多余水分后准确称其重量。

免疫器官指数（mg/g）=免疫器官鲜重（mg）/活体重（g）。

新城疫抗体效价的测定：鹅苗于注射新城疫疫苗前，分别从每组中抽取6只体重相近的鹅，进行静脉采血，并作标记；注射新城疫疫苗后，分别于注射后第7、14天再次对标记鹅进行静脉采血，血样作不抗凝处理，3 000 r/min 离心10 min 后吸取血清，用于测定新城疫抗体效价。抗体效价的测定根据病毒的血凝和血凝抑制试验进行。血清效价为以100%抑制凝集的血清最大稀释度。

1.5 统计分析

采用SPSS 19.0软件中单因素方差分析(one-way ANOVA)中的LSD法进行多重比较。试验数据以“平均值±标准差”表示。$P<0.05$ 和 $P<0.01$ 分别为差异显著和极显著水平。

2 结果与分析

2.1 低锌饲粮添加植酸酶对1~4周龄鹅生长性能的影响

由表2可以看出，Ⅳ、Ⅴ组的体重和平均日增重均极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（$P<0.01$），Ⅳ组的平均日采食量极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（$P<0.01$），Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组的料重比极显著低于Ⅰ组（$P<0.05$），各组死淘率差异不显著（$P>0.05$）。

以上结果表明，饲粮添加植酸酶可显著提高1~4周龄鹅的生长性能，且在加酶条件下平均日增重和料重比与饲粮锌添加水平有相关性。对Ⅱ～Ⅵ组平均日增重（Y_1）和料重比（Y_2）分别与饲粮锌添加水平(X)进行二次曲线拟合，建立回归方程如下：

Y_1=-0.003X^2+0.204X+40.538 (R^2=0.915，P_Q=0.000)；

Y_2=2.410-0.007X+(7.813E-5)X^2 (R^2=0.817，P_Q=0.000)。

由上述回归方程得出，饲粮中锌添加水平为34.00 mg/kg 时平均日增重最大，饲粮中锌添加水平为44.70 mg/kg 时料重比最低。从综合效益角度分析，建议1~4周龄鹅饲粮中植酸

酶添加水平为 1 200 U/kg 条件下，获得最佳生长性能的饲粮锌添加水平为 34.00~44.70 mg/kg。

表 2　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅生长性能的影响

Table 2　Effects of phytase supplementation in a low zinc diet on growth performance of geese aged from 1 to 4 weeks

组别 Groups	体重 BW/kg	平均日增重 ADG/g	平均日采食量 ADFI/g	料重比 F/G	死淘率 Mortality rate/%
Ⅰ	1.25±0.04[c]	41.72±0.38[c]	99.17±1.17[cd]	2.38±0.01[a]	0.01
Ⅱ	1.20±0.04[c]	40.83±0.23[d]	97.81±0.38[d]	2.40±0.02[ab]	0.05
Ⅲ	1.43±0.05[ab]	42.39±0.45[bc]	99.79±0.31[bc]	2.35±0.02[b]	0.03
Ⅳ	1.48±0.06[a]	44.97±0.36[a]	101.90±0.47[a]	2.26±0.01[c]	0.01
Ⅴ	1.47±0.05[a]	44.52±0.58[a]	100.84±1.38[ab]	2.27±0.01[c]	0.02
Ⅵ	1.30±0.13[bc]	43.03±0.30[ab]	99.51±1.10[bc]	2.31±0.02[c]	0.01
P 值 *P*-value	0.006	0.001	0.002	0.004	

同列数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著($P>0.05$)，相邻小写字母表示差异显著($P<0.05$)，相间小写字母表示差异极显著($P<0.01$)。表 3、表 5、表 6、表 7 同。

In the same column, values with the same small or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with adjacent small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with alternate small letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$). The same as Table 3, Table 5, Table 6 and Table 7.

2.2　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅胫骨发育的影响

由表 3 可以看出，IV、Ⅴ组的骨密度显著高于Ⅱ组（$P<0.05$）；IV、Ⅴ组的骨矿含量显著或极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）；IV、Ⅴ、VI组的 AKP 活性显著高于Ⅰ组（$P<0.05$），极显著高于Ⅱ组（$P<0.01$）；各组骨灰分含量差异不显著（$P>0.05$）；Ⅳ、VI 组 Ca 含量显著高于Ⅱ组（$P<0.05$）；IV、Ⅴ、VI组 P 含量显著高于Ⅱ组（$P<0.05$）。

对Ⅱ~VI组的骨密度和血清 AKP 活性分别进行二次曲线拟合，结果发现，骨密度与饲粮锌添加水平的曲线关系不显著（$R^2<0.700$），血清 AKP 活性（Y_3）与饲粮锌添加水平（X）的回归方程如下：

Y_3=-0.004X^2+0.411X+90.545 (R^2=0.911，P_Q=0.000)。

由上述回归方程得出，当饲粮锌添加水平为 51.38 mg/kg 时，血清 AKP 活性最大，即成骨细胞的活动越强。

表 3　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅胫骨发育的影响

Table 3　Effects of phytase supplementation in a low zinc diet on tibia development of geese aged from 1 to 4 weeks

组别 Groups	骨密度 BMD/（g/cm²）	骨矿含量 BMC /g	碱性磷酸酶 AKP/ (金氏单位 /dL)	骨灰分 Bone ash /%	钙 Ca /%	磷 P /%
Ⅰ	0.314±0.013[ab]	8.87±0.36[bc]	96.95±0.39[b]	48.51±0.62	17.23±0.06[ab]	6.70±0.08[a]
Ⅱ	0.307±0.028[b]	8.32±1.39[c]	90.10±2.11[c]	47.99±2.13	16.94±0.23[b]	6.45±0.10[b]
Ⅲ	0.334±0.007[ab]	8.93±0.20[bc]	96.81±0.27[b]	48.64±0.82	17.20±0.30[ab]	6.57±0.12[ab]
Ⅳ	0.338±0.008[a]	10.28±0.36[a]	99.30±0.57[a]	49.44±1.27	17.58±0.09[a]	6.72±0.11[a]
Ⅴ	0.342±0.020[a]	10.37±1.04[a]	98.94±0.39[a]	49.08±1.53	17.45±0.50[ab]	6.74±0.09[a]
Ⅵ	0.331±0.006[ab]	10.12±0.22[ab]	99.08±0.39[a]	49.03±1.19	17.65±0.39[a]	6.71±0.12[a]
P 值 *P*-value	0.028	0.020	<0.001	0.327	0.115	0.031

由表 4 可以看出，骨密度、钙含量与血清 AKP 活性呈极显著正相关（P<0.01），血清磷含量与血清 AKP 活性呈显著正相关（P<0.05）。

以上结果表明，饲粮添加植酸酶与锌协同，能通过提高血清 AKP 的活性，增加骨密度，促进骨中钙、钙的沉积，从而促进胫骨的发育。

表 4　血清碱性磷酸酶活性与胫骨指标的相关性分析

Table 4　Correlation analysis between serum AKP activity and tibia indicator

项目 Items	骨密度 BMD	钙 Ca	磷 P
碱性磷酸酶 AKP	0.736**	0.642**	0.561*

*表示显著相关（P<0.05），**表示极显著相关（P<0.01）。

* mean significant correlation （P<0.05），** mean extremely significant correlation （P<0.05）.

2.3 低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅抗氧化能力的影响

由表 5 可以看出，血清中，III、Ⅳ、Ⅵ组的 T-AOC 显著高于II组（P<0.05），与I组差异不显著（P>0.05）；Ⅲ、Ⅳ组 Cu-Zn SOD 活性显著高于II组（P<0.05），V、VI组极显著高于II组（P<0.01）；各组 MDA 含量差异不显著（P＞0.05）；IV~VI组 GSH-Px 活性极显著高于I、II组（P<0.01）。

肝脏中，V、VI组的 T-AOC 显著或极显著高于I、II组（P<0.05 或 P<0.01）；IV、Ⅴ、VI组的 Cu-Zn SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量均显著或极显著高于I、II组（P<0.05 或 P<0.01）。

II~VI的血清和肝脏抗氧化指标均随着饲粮锌添加水平的升高有提高趋势。通过对II~VI的曲线拟合分析可得，血清 T-AOC（Y_4）和肝脏 T-AOC（Y_5）与饲粮锌添加水平（X）呈二次曲线关系，建立回归方程如下：

Y_4=12.179+0.042X-(4.18E-4)X^2 (R^2=0.702，P_Q=0.001)；

Y_5=0.853+0.017X-(1.79E-4)X^2 (R^2=0.748，P_Q=0.000)。

由上述回归方程得出，当饲粮锌添加水平为 50.24 mg/kg 时，血清 T-AOC 最高；当饲粮锌添加水平为 47.49 mg/kg 时，肝脏 T-AOC 最高。以上结果表明，低锌饲粮添加植酸酶能够提高鹅血清和肝脏的抗氧化能力。

表 5　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅抗氧化能力的影响

Table 5　Effects of phytase supplementation in a low zinc diet on antioxidant capacity of geese aged from 1 to 4 weeks

组别 Groups	总抗氧化能力 T-AOC		铜锌超氧化物歧化酶 CuZn-SOD		丙二醛 MDA		谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px	
	血清 Serum/(U/mL)	肝脏 Liver/(U/mg prot)	血清 Serum/(U/mL)	肝脏 Liver/(U/mg prot)	血清 Serum/(nmol/mL)	肝脏 Liver/(nmol/mg prot)	血清 Serum/(U/mL)	肝脏 Liver/(U/mg prot)
I	12.48±0.18^{bc}	0.99±0.07^{bc}	72.49±2.33^{c}	119.86±1.72^{a}	3.71±0.15	3.78±0.04^{d}	553.30±8.55^{c}	198.21±2.38^{c}
II	12.20±0.21^{c}	0.86±0.06^{c}	69.54±0.68^{d}	118.96±2.39^{a}	3.75±0.07	3.97±0.16^{cd}	545.96±6.06^{c}	194.85±3.90^{c}
III	12.74±0.09^{b}	1.06±0.10^{abc}	74.23±0.54^{c}	121.87±2.95^{ab}	2.17±0.18	2.12±0.14^{bc}	606.38±3.57^{b}	210.18±10.62^{bc}
IV	12.94±0.09^{b}	1.24±0.14^{ab}	75.99±1.32^{bc}	129.62±5.29^{bc}	2.46±0.28	2.29±0.22^{ab}	678.94±9.83^{a}	224.09±14.71^{ab}
V	13.41±0.52^{a}	1.26±0.13^{a}	77.63±2.41^{ab}	131.14±8.31^{c}	1.98±0.13	1.44±0.21^{a}	711.39±12.27^{a}	231.36±10.29^{a}

VI	13.06±0.21^{b}	1.16±0.16^{a}	79.37±0.91^{a}	132.11±5.33^{c}	1.99±0.07	1.36±0.12^{ab}	705.59±6.58^{a}	234.22±15.80^{a}
P 值 *P*-value	0.001	0.008	0.040	0.015	0.064	0.003	0.009	0.002

2.4　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅免疫性能的影响

由表 6 可以看出，III~VI组的胸腺指数和法氏囊指数均显著或极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（P<0.05 或 P<0.01）；各组脾脏指数差异不显著（P>0.05）。

表 6　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅免疫器官指数的影响

Table 6　Effects of phytase supplementation in a low zinc diet on immune organ index of geese aged from 1 to 4 weeks

组别 Groups	胸腺指数 Thymus index	脾脏指数 Spleen index	法氏囊指数 Bursa of Fabricius index
I	1.56±0.45^{c}	1.36±0.66	0.37±0.09^{ab}
II	1.17±0.35^{c}	0.74±0.34	0.28±0.03^{b}
III	1.95±0.55^{ab}	2.07±2.11	0.46±0.04^{a}
IV	1.75±0.21^{b}	1.88±0.20	0.42±0.07^{a}
V	2.71±0.40^{a}	2.36±0.47	0.45±0.05^{a}
VI	1.95±0.62^{ab}	1.94±0.56	0.42±0.03^{a}
P 值 *P*-value	0.025	0.417	0.014

由表 7 可以看出，免疫前后，IV~VI组的血清新城疫抗体水平均显著或极显著高于Ⅰ、Ⅱ组（P<0.05 或 P<0.01），且Ⅱ~Ⅴ组随着饲粮锌添加水平的增加，血清抗体水平呈上升趋势。通过对Ⅱ~VI抗体水平的二次曲线拟合分析，免疫第 14 天后的血清抗体水平（Y_6）与饲粮锌添加水平（X）呈二次线性关系，建立回归方程如下：

$Y_6=6.365+0.045X-(4.53E-4)X^2$ (R^2=0.882，P_Q=0.000)。

由上述回归方程得出，当饲粮锌添加水平为 49.67 mg/kg 时，血清抗体水平最高。以上结果表明，饲粮添加植酸酶与锌协同能够提高鹅免疫性能，且当饲粮锌添加水平为 49.67 mg/kg 时，免疫第 14 天后能获得最佳血清抗体水平。

表 7　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅血清抗体水平的影响

Table 7　Effects of phytase supplementation in a low zinc diet on serum antibody level of geese aged from 1 to 4 weeks

组别 Groups	免疫前 Pre-immunization	免疫第 7 天后 The 7th day after immunization	免疫第 14 天后 The 14th day after immunization
Ⅰ	4.45±0.12[c]	5.42±0.09[c]	6.77±0.11[c]
Ⅱ	4.21±0.07[d]	5.08±0.21[d]	6.32±0.20[d]
Ⅲ	4.58±0.12[bc]	5.67±0.10[bc]	7.09±0.12[bc]
Ⅳ	4.75±0.09[b]	5.93±0.12[ab]	7.41±0.16[ab]
Ⅴ	5.13±0.13[a]	6.20±0.26[a]	7.75±0.32[a]
Ⅵ	5.03±0.10[a]	6.13±0.14[a]	7.66±0.18[a]
P 值 *P*-value	0.007	0.013	0.006

3　讨　论

3.1 低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅生长性能的影响

动物的生长性能是反映动物生长发育的指标，幼龄动物是生长力最旺盛的时期，其生长性能高低将直接影响其进入育成期的生长发育好坏。锌和植酸酶均能对育雏期动物的生长性能产生有利的影响。苏丽娜等[12]研究了锌对蛋雏鸭生长性能的影响，发现饲粮锌添加水平的提高能促进蛋雏鸭生长性能，并确定蛋雏鸭饲粮适宜锌添加水平为 51.8 mg/kg；Attia 等[13]发现，在雏鸡饲粮中添加 500 U/kg 微生物来源植酸酶极显著提高了雏鸡的生长性能；Józefiak 等[14]研究了复合糖酶与植酸酶对育雏鸡生长性能的影响，发现加酶组料重比由 1.90 降至 1.84。本试验的研究结果表明，加酶的Ⅲ~Ⅵ组料重比低于不加酶的Ⅰ组，平均日增重高于Ⅰ组；Ⅱ组的生长性能显著低于其他各组，是由于Ⅱ组饲粮中的锌水平不能满足鹅需要量，鹅群普遍出现缺锌症状。为了探讨添加植酸酶时锌适宜添加水平，对料重比和平均日增重分别进行二次曲线拟合，结果显示锌的添加水平应控制在 34.00~44.70 mg/kg。由此证明饲粮添加植酸酶能有效降低锌的添加水平。

3.2　低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅胫骨发育的影响

锌和植酸酶对动物骨骼的发育均有影响，其作用机制主要与影响 AKP 的活性以及影响钙、磷代谢有关。AKP 是一种催化磷酸单酯水解释放无机磷的酶类，是反映骨骼代谢和成骨细胞活动的重要指标，缺锌可引起胃和血清 AKP 活性降低，导致骨代谢异常，改变骨的钙化作用，使骨骼生长板上的软骨细胞增生，骨密度下降。何霆等[15]发现，肉仔鸡血清 AKP 活性随饲粮锌添加水平的提高而提高，当饲粮锌添加水平为 70 mg/kg 时达到最高。而植酸酶可使饲粮有效磷水平增加，促进血液和骨骼中的钙、磷代谢，增加骨中钙和磷的沉积，从而促进胫骨的发育。Manobhavan 等[16]研究了高剂量植酸酶对雏鸡骨骼矿物元素含量的影响，发现饲粮添加 2 500~5 000 U/kg 植酸酶能显著增加骨骼中钙、磷等矿物元素的含量；雷乔波等[17]研究表明，饲粮添加 300 U/kg 植酸酶能显著提高胫骨灰分和灰分中磷的含量；赵春等

[18]研究发现，在肉仔鸡饲粮添加植酸酶能显著促进钙、磷的利用率。本试验的研究首先证明了添加植酸酶的III~VI组的血清 AKP 活性比Ⅰ组显著增加，且与饲粮锌添加水平之间存在二次曲线关系，对其进行拟合分析后得知，当饲粮锌添加水平为 51.38 mg/kg 时血清 AKP 活性最高，且血清 AKP 活性与骨密度和钙、磷含量之间存在显著或极显著线性关系；其次证明了添加植酸酶后，IV~VI组的骨磷含量显著高于Ⅰ、Ⅱ组。由此表明饲粮添加植酸酶后，能提高锌对胫骨发育的生物学效价，有效降低饲粮锌的添加水平。

3.3 低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅抗氧化能力的影响

动物机体的抗氧化能力决定了动物机体防御体系的强弱。T-AOC 是体内酶促抗氧化体系的重要组成部分，能清除机体不断产生的氧自由基。GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的含锌酶，它主要参与还原型谷胱甘肽对过氧化氢（H_2O_2）的还原反应，能够防止脂质过氧化，提高机体的抗氧化能力。CuZn-SOD 是一种锌依赖酶，主要功能是使超氧自由基发生歧化反应，消除其毒性，防止机体过氧化。MDA 含量是间接反映生物体内氧自由基的代谢状况以及脂质过氧化程度的指标。王宝维等[19]的研究表明，增加饲粮锌水平能显著通过血清和肝脏 T-AOC 及 GSH-Px、CuZn-SOD 活性，显著降低血清和肝脏 MDA 含量；钟映梅等[20]的研究表明，提高饲粮锌水平能降低鹅血清和肝脏的 MDA 含量。Tang 等[21]研究了补锌对胰腺炎大鼠的抗氧化调节，发现补锌组的超氧化物歧化酶（SOD）和还原型谷胱甘肽（GSH）活性显著提高。Liu 等[22]研究证明，植酸酶能提高血清 T-AOC 和 SOD 活性 9%~16%；Gowanlock 等[23]在仔猪饲粮中加入植酸酶，发现锌与植酸酶协同能够提高肝脏 CuZn-SOD 的活性。本试验研究发现，缺锌的Ⅱ组血清和肝脏抗氧化指标均显著低于其他各组；添加植酸酶后，Ⅳ~Ⅵ组的血清和肝脏的 T-AOC 和 GSH-Px 活性比Ⅰ组显著升高；血清的 MDA 含量差异不大，肝脏的 MDA 含量，Ⅳ~Ⅵ组比Ⅰ组极显著降低。结果表明添加植酸酶提高了锌促进机体抗氧化能力的生物学效应，两者协同能有效降低饲粮锌的添加水平，但缺锌状态会严重降低机体抗氧化能力。经过对血清和肝脏 T-AOC 的分析，饲粮锌添加水平在 47.49~50.24 mg/kg 时机体的抗氧化能力最佳。

3.4 低锌饲粮添加植酸酶对 1~4 周龄鹅免疫性能的影响

对免疫性能的影响主要包括对免疫器官指数和血清抗体水平的影响。家禽主要的免疫器官包括胸腺、脾脏和法氏囊。其中胸腺发挥生理作用需要锌的参与；脾脏主要与产生抗原和免疫应答有关；法氏囊对幼龄动物的体液免疫有重要影响。三者的发育情况由相应的器官指数衡量。苏莉娜等[24]研究发现，饲粮锌添加水平为 55.7 mg/kg 时，胸腺指数、脾脏指数、法氏囊指数显著升高；Cui 等[25]研究缺锌对鸭免疫器官发育的影响，发现缺锌严重抑

制了鸭法氏囊的发育；徐晓娜等[26]的研究发现添加 900 U/kg 植酸酶，五龙鹅的胸腺指数、脾脏指数和法氏囊指数显著提高；Zyła 等[27]在肉鸡饲粮添加植酸酶复合酶制剂，发现植酸酶能增加法氏囊的重量。本试验在低锌水平饲粮添加植酸酶后，III~VI组的胸腺指数和法氏囊指数显著增加，甚至超过了I、II组的水平，但 2 个对照组间差异不大，分析原因可能由于Ⅰ组未添加植酸酶，幼龄鹅饲粮秸秆含量高，其中的植酸抑制了锌的吸收利用，而缺锌的II组由于添加了植酸酶，对免疫器官的发育有一定的促进作用，弥补了锌的不足。结果表明，植酸酶与锌协同有效促进了免疫器官的发育，且能有效降低饲粮锌的添加。

免疫抗体效价直接反映了动物体液免疫的水平，对预防家禽传染病的发生具有重要的意义。王明发等[28]研究表明，添加氨基酸络合锌极显著提高了肉鸡新城疫抗体水平；Chand 等[29]探讨了锌对肉鸡血清抗体的影响，发现补锌组的传支和传法的抗体滴度显著增加；Shaw 等[30]在接种了球虫病的肉仔鸡饲喂植酸酶，发现饲喂植酸酶后白介素基因的表达量显著提高；Liu 等[31]研究发现，添加高植酸酶饲粮的肉仔鸡新城疫抗体水平显著提高。本试验的研究表明，添加植酸酶的III~VI组，免疫前后血清新城疫抗体水平较Ⅰ组均有显著提高，Ⅱ组的抗体水平较低，说明缺锌对血清抗体的产生有不良影响。试验结果表明，添加植酸酶能提高低饲粮锌水平下鹅的血清抗体水平，也说明添加植酸酶可以降低饲粮锌的添加水平。

综上研究结果表明，植物性饲粮中植酸水平均较高，尤其是秸秆中含量更多，家禽等单胃动物自身不能分泌植酸酶，添加微生物植酸酶可将饲粮中的植酸盐水解为肌醇和磷酸单酯酶，使植酸对锌等微量元素的络合作用降低，使其以无机离子态的形式游离出来，被单胃动物所吸收利用，从而提高了锌的营养利用率，使低锌饲粮也可以取得理想的生产效果，此结果对指导鹅生态养殖具有重要意义。

4 结 论

①低锌饲粮中添加植酸酶能够提高1~4周龄鹅生长性能、免疫性能和机体抗氧化能力，促进胫骨发育，降低饲粮中锌的添加水平。

②建议饲粮添加1 200 U/kg植酸酶的条件下，1~4周龄鹅饲粮锌的适宜添加水平为44.70~51.38 mg/kg。

参考文献：

[1] 郝二英,张楠楠,檀晓萌,等.微量元素在家禽生产中的应用研究[J].饲料广角,2014(19):44–46.

[2] 虞泽鹏,乐国伟,施用晖,等.不同锌源对断奶小鼠生长及机体抗氧化能力的影响[J].畜牧与兽医,2005,37(4):1–3.

[3] CHA M C,ROJHANI A.Zinc deficiency inhibits the direct growth effect of growth hormone

on the tibia of hypophysectomized rats[J].Biological Trace Element Research,1997,59(1/2/3):99–111.
[4] SEBASTIAN S,TOUCHBURN S P,CHAVEZ E R,et al.Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens[J].Poultry Science,1996,75(12):1516–1523.
[5] VEUM T L,BOLLINGER D W,BUFF C E,et al.A genetically engineered *Escherichia coli* phytase improves nutrient utilization,growth performance,and bone strength of young swine fed diets deficient in available phosphorus[J].Journal of Animal Science,2006,84(5):1147–1158
[6] WALDROUP P W,AMMERMAN C B, HARMS H.The availability of phytic acid phosphorus for chicks. 4. The availability of natural plant phosphorus[J].Poultry Science,1965,44:880–886
[7] 陈苗璐,王宝维,张名爱,等.饲粮锌水平对鹅生长性能、血清生化指标及激素含量的影响[J].动物营养学报,2013,25(5):1105–1112.
[8] BRNIĆ M,WEGMÜLLER R,ZEDER C,et al.Influence of phytase,EDTA,and polyphenols on zinc absorption in adults from porridges fortified with zinc sulfate or zinc oxide[J].The Journal of Nutrition,2014,144(9):1467–1473.
[9] REVY P S,JONDREVILLE C,DOURMAD J Y,etal.Effect of zinc supplemented as either an organic or an inorganic source and of microbial phytase on zinc and other minerals utilisation by weanling pigs[J].Animal Feed Science and Technology,2004,116(1/2):93–112.
[10] 朱连勤,呙于明,朱风华,等.日粮中不同植酸酶和植酸磷水平对产蛋鸡脏器组织锌、铜和锰含量的影响[C]//家禽研究最新进展:第十一次全国家禽学术讨论会论文集.青岛:中国畜牧兽医学会,2003.
[11] 王璐,易路,王波,等.家禽料重比不同测定方法的比较研究[J].中国家禽,2015,37(17):31–34
[12] 苏丽娜,王安.锌对蛋雏鸭生长性能和血液生化指标的影响[J].中国饲料,2012(12):35–42.
[13] ATTIA Y A,BOVERA F,ABD EL-HAMID A E,et al.Effect of zinc bacitracin and phytase on growth performance,nutrient digestibility,carcass and meat traits of broilers[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2016,100(3):485–491.
[14] JÓZEFIAK D,PTAK A,KACZMAREK S,et al.Multi-carbohydrase and phytase supplementation improves growth performance and liver insulin receptor sensitivity in broiler chickens fed diets containing full-fat rapeseed[J].Poultry Science,2010,89(9):1939–1946.
[15] 何霆,刘汉林,梁琳,等.肉仔鸡饲粮中锌需要量的研究[J].动物营养学报,1995,7(1):2–9.
[16] MANOBHAVAN M,ELANGOVAN A V,SRIDHAR M,et al.Effect of super dosing of phytase on growth performance,ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2016,100(1):93–100.
[17] 雷乔波,石凌霄,张克英,等.不同剂型植酸酶对蛋鸡产蛋性能、蛋品质和骨骼质量的影响[J].动物营养学报,2010,22(5):1374–1381.
[18] 赵春,朱忠珂,李勤凡,等.不同剂型植酸酶对肉仔鸡生长性能和钙、磷利用率的影响[J].动物营养学报.2007,19(6):714–718.
[19] 王宝维,陈苗璐,王秉翰,等.锌对1~4周龄鹅生长性能、免疫与抗氧化功能及金属硫蛋白——ImRNA表达量的影响[J].动物营养学报,2015,27(4):1076–1085.
[20] 钟映梅,王力强,孙刚,等.锌对鹅铜锌超氧化物歧化酶和丙二醛含量影响变化的研究[J].现代畜牧兽医,2007(3):11–13.
[21] TANG Q Q,SU S Y,FANG M Y.Zinc supplement modulates oxidative stress and

antioxidant values in rats with severe acute pancreatitis[J].Biological Trace Element Research,2014,159(1/2/3):320–324.

[22] LIU N,RU Y J,LI F D.Effect of dietary phytate and phytase on metabolic change of blood and intestinal mucosa in chickens[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2010,94(3):368–374.

[23] GOWANLOCK D W,MAHAN D C,JOLLIFF J S,et al.Evaluating the influence of National Research Council levels of copper,iron,manganese,and zinc using organic (Bioplex) minerals on resulting tissue mineral concentrations,metallothionein,and liver antioxidant enzymes in grower-finisher swine diets[J].Journal of Animal Science,2015,93(3):1149–1156.

[24] 苏莉娜,王安.饲粮锌水平对笼养蛋雏鸭生长性能、抗氧化功能及免疫器官发育的影响[J].动物营养学报,2012,24(5):815–821.

[25] CUI H M,JING F,XI P.Pathology of the thymus,spleen and bursa of Fabricius in zinc-deficient ducklings[J].Avian Pathology,2003,32(3):259–264.

[26] 徐晓娜,王宝维,葛文华,等.植酸酶对五龙鹅免疫功能和血清生化指标的影响[J].中国饲料,2014(11):30–38.

[27] ZYŁA K,WIKIERA A,KORELESKI J,et al.Comparison of the efficacies of a novel aspergillus niger mycelium with separate and combined effectiveness of phytase,acid phosphatase,and pectinase in dephosphorylation of wheat-based feeds fed to growing broilers[J].Poultry Science,2000,79(10):1434–1443.

[28] 王明发,李万利,王浩宇,等.饲料中添加不同锌源及锌水平对固始鸡和AA肉鸡免疫功能的影响研究[J].畜牧与兽医,2016,48(1):25–33.

[29] CHAND N,NAZ S,KHAN A,et al.Performance traits and immune response of broiler chicks treated with zinc and ascorbic acid supplementation during cyclic heat stress[J].International Journal of Biometeorology,2014,58(10):2153–2157.

[30] SHAW A L,VAN GINKEL F W,MACKLIN K S,et al.Effects of phytase supplementation in broiler diets on a natural *Eimeria* challenge in naive and vaccinated birds[J].Poultry Science,2011,90(4):781–790.

[31] LIU N,RU Y J,COWIESON A J,et al.Effects of phytate and phytase on the performance and immune function of broilers fed nutritionally marginal diets[J].Poultry Science,2008,87(6):1105–1111.

Effects of Phytase Supplementation in a Low Zinc Diet on Growth Performance, Tibial Development, Immune Performance and Antioxidant Capacity of Geese Aged from 1 to 4 Weeks

ZHENG Huiwen WANG Baowei* GE Wenhua ZHANG Ming'ai YUE Bin ZHANG Zenan ZHANG Yangyang REN Min

(*Nutrition and Feed Laboratory of China Agriculture Research System, Institute of High Quality Waterfowl, Qingdao Agricultural University, Qingdao* 266109*, China)*

Abstract: This experiment was conducted to study the effect of phytase supplementation in a low zinc diet on growth performance, tibial development, immune performance and antioxidant

capacity of geese aged from 1 to 4 weeks, and to explore whether phytase could effectively reduce the zinc supplemental level and increase the biological availability of zinc. A total of 360 *Wulong* geese were randomly divided into six groups with six replicates per group and ten geese per replicate (half male and half female). Geese in the group I (positive control group) were fed a basal diet supplemented with 80 mg/kg zinc sulfate, and without phytase; geese in the group II (negative control group) were fed a basal diet supplemented with 1 200 U/kg phytase, and without zinc sulfate; and the others in the groups Ⅲ to Ⅵ were fed the diets supplemented with 16, 32, 48 and 64 mg/kg zinc sulfate based on negative control group, respectively. The experiment lasted for 28 days. The results showed as follows: 1) by quadratic curve fitting analysis, in the condition of dietary supplemented with 1 200 U/kg phytase, when dietary zinc supplemental level was 43.44 to 60.5 mg/kg, the average daily gain and feed to gain reached the best. 2) The bone mineral density (BMD) of groups IV and VI was significantly higher than that of group II (P<0.05); the bone mineral content (BMC) and serum alkaline phosphatase (AKP) activity of groups IV and VI were significantly higher than those of groups I and II (P<0.05 or P<0.01). By quadratic curve fitting analysis, when the dietary zinc supplemental level was 51.38 mg/kg, the serum AKP activity reached the strongest. 3) The total antioxidant capacity (T-AOC) in serum and liver of group IV was significantly higher than that of group II (P<0.05), and were no significant difference compared with group I (P>0.05). By quadratic curve fitting analysis, when the zinc supplemental level was 41.39 and 47.49 mg/kg, respectively, the T-AOC in serum and liver was the highest. 4) The thymus index and bursa of Fabricius index of groups III to VI were significantly higher than those of groups I and II (P<0.05 or P<0.01), while the level of serum antibody against avian influenza of groups Ⅳ to Ⅵ was significantly higher than that of groups I and II before or after immunization (P<0.05 or P<0.01). In conclusion, diet adding phytase can enhance the growth performance of *Wulong* geese aged from 1 to 4 weeks, promote development of tibia, enhance the antioxidant capacity and immune performance, improve the utilization rate of zinc, reduce the dietary zinc supplemental level, increase the biological availability of zinc. It suggested that the optimal zinc supplemental level is 44.70 to 51.38 mg/kg while diet adding 1 200 U/kg phytase.

Key words: zinc; phytase; geese; growth performance; tibial development; antioxidant capacity; immune

*Corresponding author, professor, E-mail: wangbw@qau.edu.cn (责任编辑　武海龙)